

Pemanfaatan Jamur Simbion Sponge dalam Bioisomerasi Asam Lemak pada Dedak untuk Menghasilkan Asam Lemak Cis

Agus Trianto^{1,2*}, Sri Sedjati¹, Ocky Karna Radjasa^{1,3}, Rachmat Afriyanto¹, Sakti Imam Muchlisin³, Septhy Kusuma Radjasa³, Muhammad Syaifudien Bahry²

¹Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro

²Natural Product Laboratory, Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro

³Tropical Marine Biodiversity Laboratorium Terpadu, Universitas Diponegoro

Jl. Prof. Soedarto, SH. Tembalang, Semarang 50275 Indonesia

Email : agustrianto.undip@gmail.com

Abstract

Utilization of Sponges Symbiotic Fungus in the Bioisomeration of Fatty Acids in Brans to Produce Cis Fatty Acid

Trans fatty acids are known to have a negative impact on human health such as triggering the coronary heart and blood vessel related diseases. However, many food and animal feed contain trans fatty acids. Bran, which is widely used as animal feed has high fatty acid content and the majority are trans fatty acids. This study aims to determine the potential of *Trichoderma harzianum*, a sponge symbiont fungus, in the process of fatty acid bioconversion in bran. Bran was fermented in saline and non-saline condition for 15 days in the room temperature. Both fermented and not bran was extracted with methanol, and the extracts were concentrated with rotary evaporator. Fatty acid extracts were analyzed on the GC with hydrolysis and methylation as pre-treatments. The test results showed the fatty acid composition changed, and there was formation of new fatty acids. The bioisomeration process occurs in the Trans-9-Elaidic acid Methyl ester into Cis-9-Oleic Methyl ester. Cis-9-oleic acid is known as oleic acid which is widely found in olive and sunflowers oil. The fungus has potential as biocatalyst for production of cis fatty acid.

Keyword : sponge; symbiotic fungus; trans-cis isomeration; fatty acid

Abstrak

Asam lemak trans dikenal mempunyai dampak negatif terhadap kesehatan manusia seperti memicu terjadinya penyakit jantung koroner dan penyakit terkait pembuluh darah. Namun asam lemak trans banyak terkandung dalam berbagai jenis bahan makanan maupun pakan ternak diantaranya adalah dedak. Dedak banyak digunakan sebagai pakan ternak mempunyai kandungan asam lemak yang tinggi dan mayoritas adalah asam lemak trans. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi jamur simbiosis spons *Trichoderma harzianum* dalam proses biokonversi asam lemak pada dedak. Fermentasi dedak dilakukan dalam kondisi salin dan unsalin selama 15 hari pada suhu ruang. Dedak yang difermentasi maupun tidak kemudian diekstrak dengan metanol kemudian dipekatkan dengan rotari evaporator. Ekstrak asam lemak dengan GC dengan pre-treatment meliputi hidrolisis dan metilasi. Hasil uji menunjukkan adanya perubahan komposisi dan terbentuknya asam lemak baru. Proses bioisomerasi terjadi pada Trans-9-Elaidic acid Methyl ester menjadi Cis-9-Oleic Methyl ester. Cis-9-oleic acid yang dikenal dengan asam oleat yang banyak terdapat dalam minyak zaitun dan bunga matahari. Jamur *T. Harzianum* mempunyai potensi sebagai biokatalis untuk memproduksi asam lemak cis.

Kata kunci : Sponge; jamur simbiosis; tran-cis isomerasi; asam lemak

PENDAHULUAN

Keanekaragaman hayati laut Indonesia memiliki potensi yang sangat besar untuk menghasilkan metabolit sekunder yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber bahan bioaktif. Spons merupakan merupakan biota filter feeder yang mengandung mikroba laut hingga 40 % dari volumenya (Murniasih *et al.*, 2016). Jamur simbiosis merupakan salah satu sumber metabolit sekunder yang sangat produktif (Amira *et al.*, 2009). Pada dekade terakhir banyak penelitian yang melaporkan bahwa jamur yang bersimbiosis dengan beberapa invertebrata laut seperti spons diketahui dapat digunakan sebagai sumber baru dari senyawa bioaktif yang dapat digunakan sebagai anti tumor, anti bakteri, antivirus, anti jamur, anti kanker dan anti inflamasi (Swathi, 2013). Jamur yang berasal dari laut banyak menghasilkan senyawa seperti poliketida, turunan alkaloid, terpen, peptide dan senyawa lain serta menghasilkan enzim seperti amilase (Swathi, 2013).

Asam lemak trans merupakan asam lemak tak jenuh yang memiliki satu ikatan rangkap atau lebih (Mazidi *et al.* 2018). Penelitian menunjukkan bahwa keberadaan asam lemak trans dapat menimbulkan dampak negatif pada kesehatan seperti memicu terjadinya penyakit jantung koroner dan penyakit lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan pengaruh asam lemak trans lebih buruk jika dibandingkan efek negative asam lemak jenuh dan kolesterol (Wikanta, 2012).

Jumlah asam lemak trans dapat meningkat akibat proses hidrogenasi dan pemanasan pada suhu tinggi. Proses hidrogenasi ditemukan oleh Norman pada tahun 1903. Proses ini terdiri dari pemanasan dengan adanya hidrogen elementer yang dibantu oleh katalisator logam biasanya menggunakan nikel. Hasil hidrogen parsial ialah a) terjadinya penjumlahan dari ikatan tak jenuh asam lemak, b) isomerisasi ikatan rangkap bentuk cis (alami) menjadi isomer trans, dan c) perubahan posisi ikatan rangkap (Silalahi *et al.*, 2002).

Dedak padi merupakan limbah hasil penggilingan padi menjadi beras. Dedak

banyak dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Komponen utama dedak adalah minyak, protein, karbohidrat dan mineral (Hadipernata *et al.*, 2012). Dedak mengandung minyak yang cukup tinggi yaitu 15–25% dan tersusun atas asam lemak palmitat, oleat dan linoleat berturut-turut berkisar antara: 12-18%; 40-50% dan 30–35% (Wang *et al.*, 2017). Minyak dedak digolongkan sebagai asam lemak tak jenuh yang memiliki nilai nutrisi yang tinggi, sehingga dalam pemanfaatannya tidak hanya sebagai bahan minyak goreng saja namun dapat diproses lebih lanjut menjadi berbagai macam produk turunannya. Namun, asam lemak yang terkandung dalam dedak merupakan asam lemak trans yang dapat memberikan pengaruh negatif seperti yang telah disebutkan jika dikonsumsi (Hadipernata, 2012).

Penelitian tentang pemanfaatan jamur simbiosis sponge dalam bioisomerisasi asam lemak pada dedak ini dilakukan dengan harapan dapat diketahui gambaran mengenai proses bioisomerisasi asam lemak trans yang berbahaya bagi kesehatan jika dikonsumsi menjadi asam lemak cis yang lebih mudah bereaksi dan minim efek samping bagi kesehatan.

MATERI DAN METODE

Media penanaman jamur *Tricoderma harzianum* adalah 200 g bekatul, 2 g yeast, 5g pepton, 200ml air laut Autoclave 121°C 15 menit. Inokulasi jamur *Tricoderma harzianum* dilakukan di dalam bok plastik steril.

Panen

Proses panen dilakukan di hari ke 15. Ekstraksi dilakukan dengan merendam jamur yang tumbuh pada media dedak dengan menggunakan pelarut methanol. Dilakukan penggantian pelarut setiap 1x24 jam selama 2 kali. Filtrat maserasi kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* untuk mendapatkan *crude extract*.

Analisis Asam lemak jenuh dan tidak jenuh Hidrolisis

Ekstrak diambil dan ditambahkan 3 ml HCl pekat kemudian dipanaskan pada waterbath suhu 80°C. Sampel dipanaskan sampai mendidih selama 2 jam kemudian

didinginkan. Ekstrak ditambahkan 5 ml diethyl ether dan petroleum ether (1:1). Vortex kemudian diaman sampai mengendap kemudian diambil lapisan atas yang merupakan minyak. Sampel kemudian diuapkan dalam waterbath dengan bantuan gas N_2 .

Metilasi

Sampel diambil 0,5 mL dan ditambahkan 1,5 mL larutan Natrium metanolik. Sampel kemudian dipanaskan pada suhu $60^\circ C$ selama 5-10 menit sambil digojok dan didinginkan. Larutan ditambahkan 2 mL Boron trifluoride metanoat, dianaskan pada suhu $60^\circ C$ selama 5-10 menit dan didinginkan. Sampel diekstrak dengan 1 mL Heptan dan 1 mL NaCl jenuh. Lapisan atas diambil dan dimasukkan ke dalam tube untuk kemudian

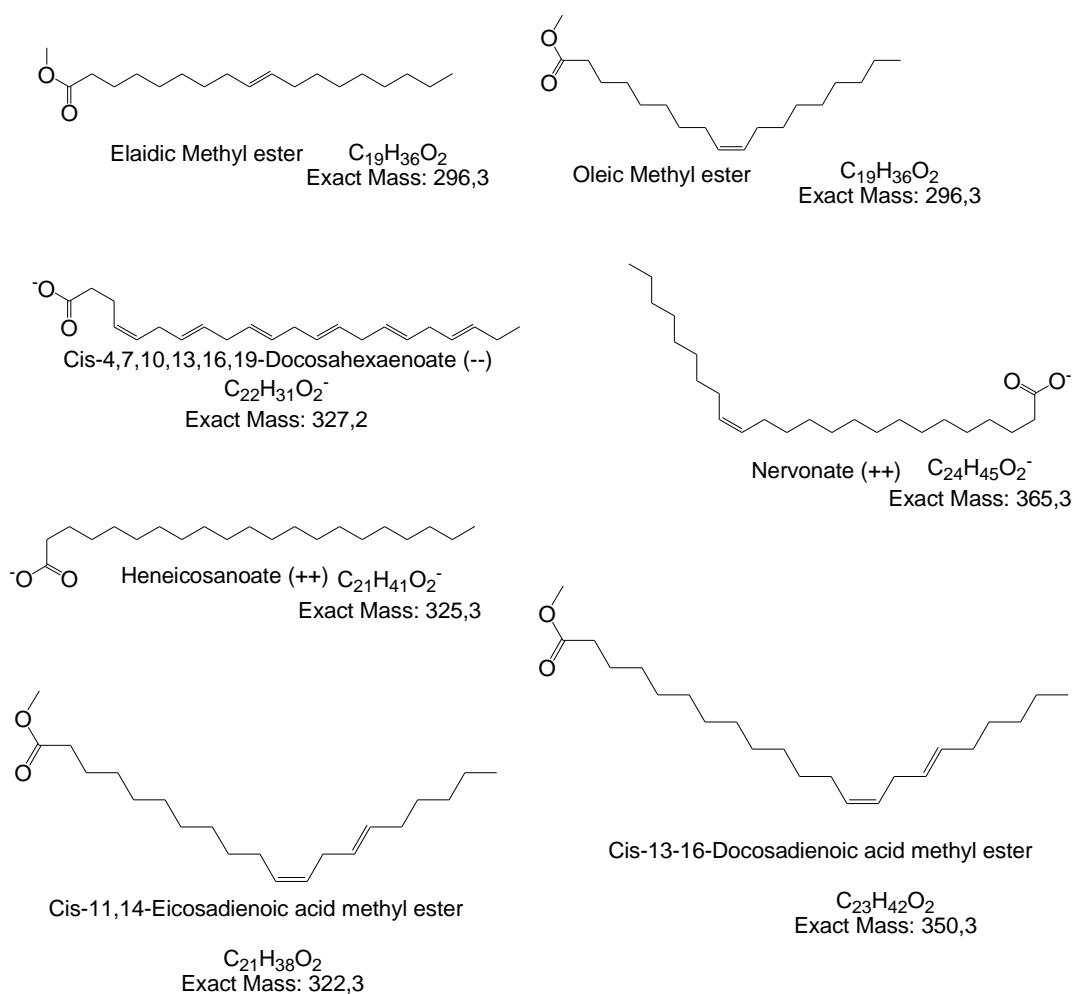
diinjeksikan ke GC sebanyak $1\mu L$ pada GC Shimadzu 2010.

Kondisi GC

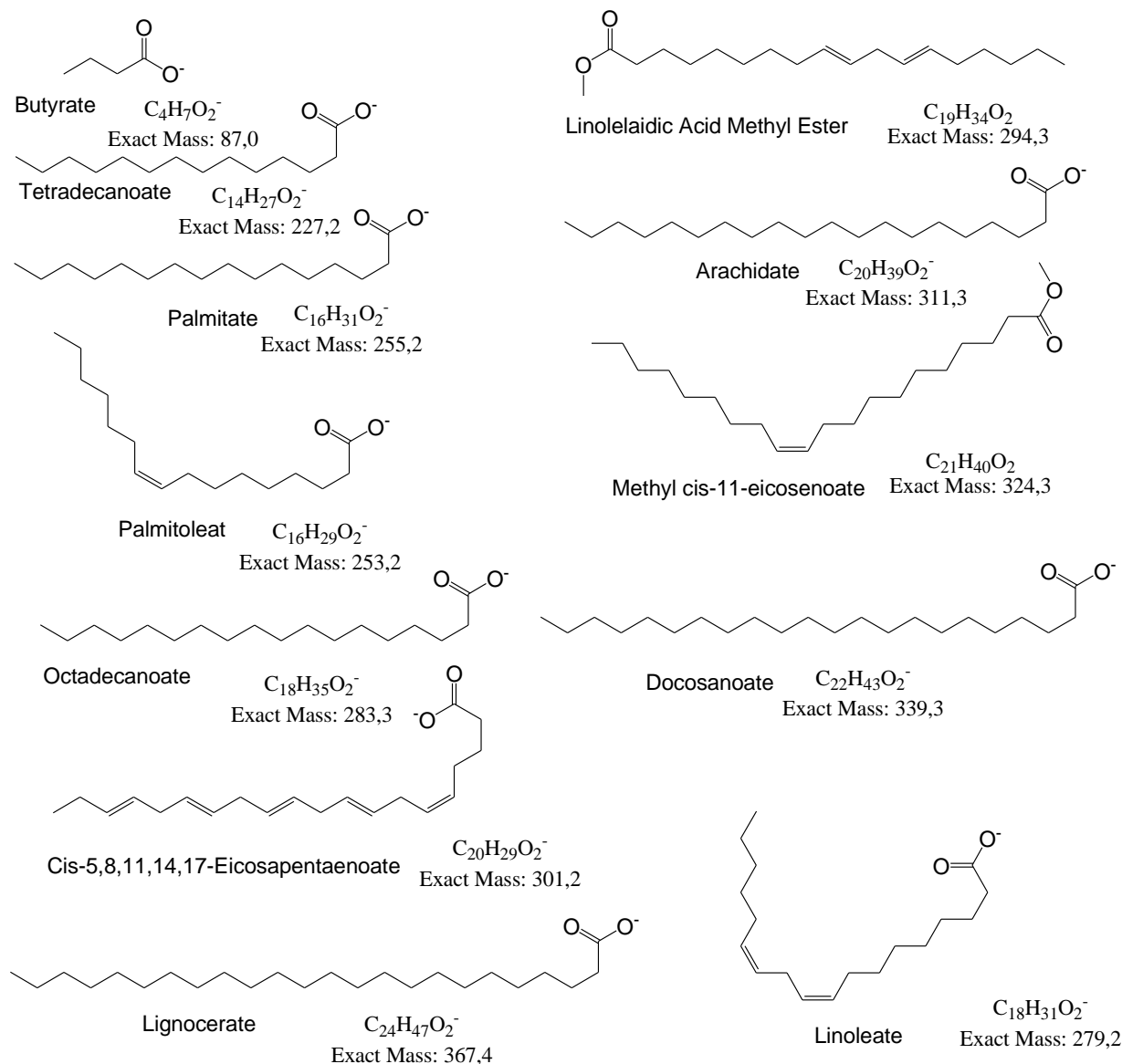
Unit GC yang digunakan adalah GC Shimadzu 2010. Detektor : FID, suhu : $260^\circ C$, Metode : Methylester 37 New 3032017 Kal,gcm, Kolom : HP-88 , Length: 100 m.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisa dengan GC menunjukan pada ekstrak dedak non fermentasi terdapat 15 asam lemak dengan panjang rantai karbon 4 hingga 24. Asam butirat merupakan asam lemak dengan rantai karbon terpendek yaitu 4, sedangkan asam lemak lignoserat merupakan asam lemak dengan rantai terpanjang yang terdapat dalam dedak. Beberapa asam lemak jenuh



Gambar 1. Struktur kimia asam-asam lemak yang berubah secara drastis atau asam lemak baru yang terbentuk/hilang.



Gambar 2. Struktur kimia asam-asam lemak yang konsentrasinya sedikit berubah atau tetap.

yang ditemukan dalam dedak tanpa fermentasi meliputi asam butirat, asam miristat, asam palmitat, asam stearat, asam arakhidat, asam Docosanoate, dan asam lignoserat. Sedangkan asam lemak tak jenuh meliputi Trans-9-Elaidic acid Methyl ester, Cis-9-Oleic Methyl ester, Linolelaidic Acid Methyl Ester, M Linoleate, Methyl cis-11-eicosenoate, M Cis-5,8,11,14,17-Eicosapentaenoate, dan Cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoate.

Jamur laut merupakan sumber enzim lipase yang berperan penting dalam pemecahan lemak menjadi asam lemak dan

gliserol (Knapp *et al.* 2013). Jamur telah digunakan dalam biokonversi asam lemak volatil menjadi “microbial asam lemak” yang potensial sebagai bahan untuk pembuatan biodisel (Jia Liu *et al.* 2017). Pada proses biokonversi tersebut asam lemak pendek akan diubah menjadi asam lemak yang lebih panjang rantainya. Melalui bioengineering panjang rantai lemak dapat diatur sesuai dengan standar mutu suatu produk (Marella *et al.* 2018).

Komposisi asam lemak mengalami perubahan pada dedak yang difermentasi

baik dalam kondisi salin maupun non-salin. Asam butirat, asam arakhidat dan asam lignoserat mengalami penurunan konsentrasi dedak yang difermentasi pada semua kondisi. Asam miristat, asam palmitoleat, asam linoleat, Methyl cis-11-eicosenoate mengalami penurunan pada kondisi unsaline tetapi naik pada kondisi salin. Asam stearat, Linolelaidic Acid Methyl Ester dan asam arakhidat mengalami kenaikan pada kondisi unsalin tetapi mengalami kelaikan pada kondisi Salin. Cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoat dan palmitat mengalami kenaikan pada semua kondisi fermentasi (Tabel 1).

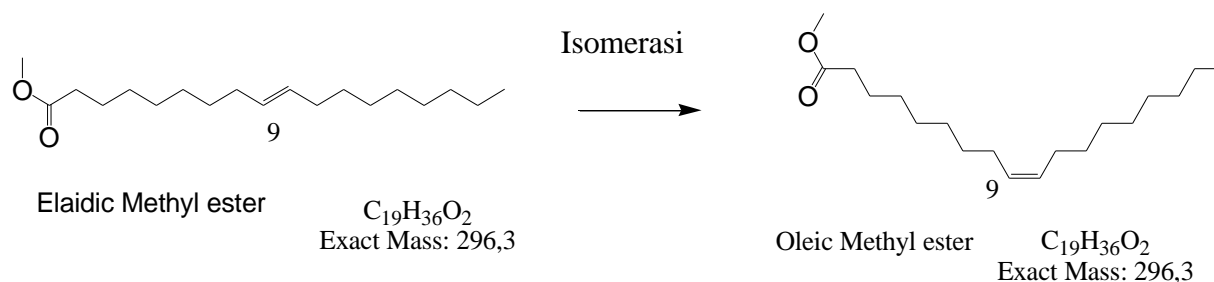
Proses fermentasi juga menghasilkan beberapa asam lemak baru yaitu: asam

Nervonate, eneicosanoate, Cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester, Cis-13-16-Docosadienoic acid methyl ester. Isomerisasi asam elaidat menjadi asam oleat merupakan fenomena yang sangat menarik (Gambar 3). Asam elaidat merupakan asam lemak tak jenuh dalam format trans yang dikenal tidak baik untuk kesehatan. Sedangkan asam oleat merupakan asam lemak dalam bentuk trans yang baik bagi kesehatan manusia.

Paparan NaCl menyebabkan perubahan komposisi biokimia jamur, terutama meningkatkan produksi polisakarida. Kapasitas *P. chrysosporium* untuk memperoleh toleransi yang meningkat terhadap stres garam dari waktu ke waktu,

Tabel 1. Hasil perubahan asam lemak trans menjadi asam lemak cis

No.	Asam lemak	Non fermented	Fermented-unsaline		Fermented-saline	
		Rata-rata konsentrasi (% Relatif)	Rata-rata konsentrasi (% Relatif)	Keterangan	Rata-rata konsentrasi (% Relatif)	Keterangan
1	M Butyrate	4,48	3,69	Turun	2,90	Turun
2	M Tetradecanoate	0,51	0,44	Turun	0,61	Naik
3	M Palmitate	15,49	17,28	Naik	16,32	Naik
4	M Palmitoleate	0,19	0,17	Turun	0,24	Naik
5	M Octadecanoate	1,28	1,41	Naik	0,62	Turun
6	Trans-9-Elaidic acid Methyl ester	36,82	0,70	Turun drastis	0,17	Turun drastis
7	Cis-9-Oleic Methyl ester	0,76	39,18	Naik drastis	34,71	Naik drastis
8	Linolelaidic Acid Methyl Ester	0,51	1,11	Naik	0,47	Turun
9	M Linoleate	37,55	33,48	Turun	40,66	Naik
10	M Arachidate	0,27	0,36	Naik	-	Tidak ada
11	Methyl cis-11-eicosenoate	1,45	1,23	Turun	1,51	Naik
12	M Docosanoate	0,11	0,12	Naik	0,11	Sama
13	M Lignocerate	0,17	0,16	Turun	-	Tidak ada
14	M Cis-5,8,11,14,17-Eikosapentaenoate	0,21	0,42	Naik	0,76	Naik
15	Cis-4,7,10,13,16,19-Docosahexaenoate	0,19	-	Tidak ada	-	Tidak ada
16	M Nervonate	-	0,14	Baru	0,36	Baru
17	M Heneicosanoate	-	0,12	Baru	0,22	Baru
18	Cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester	-	-	-	0,21	Baru
19	Cis-13-16-Docosadienoic acid methyl ester	-	-	-	0,14	Baru



Gambar 3. Struktur kimia asam-asam lemak yang berubah secara drastis atau asam lemak baru yang terbentuk/hilang.

dapat dikaitkan dengan kapasitas yang lebih tinggi untuk produksi dan / atau retensi zat terlarut (Jeon *et al.*, 2017). Menariknya, jamur ini, setelah terpapar ke tingkat salinitas rendah, meningkat basalnya (di bawah kondisi kontrol) dari beberapa metabolit (misalnya senyawa dengan karboksil, lipid, protein, polisakarida), seperti yang dikonfirmasi oleh peningkatan daerah puncak eksternal yang diperoleh oleh spektrum infra-merah (penambahan 53, 10, 9 dan 43% untuk karboksil, lipid, protein dan polisakarida, masing-masing).

Perbedaan intensitas puncak diamati antara konsentrasi kontrol dan NaCl untuk NPENaCl, perbedaan tersebut tidak diamati untuk PE-NaCl. Hasil ini dapat menunjukkan kapasitasnya untuk menyesuaikan diri dengan stres osmotik setelah paparan yang berkepanjangan. Sebenarnya, kemampuan jamur untuk menyesuaikan diri dengan stres kimia sudah dikenal dan telah banyak digunakan untuk meningkatkan beberapa karakteristik dari organisme ini.

Salinitas dapat mempengaruhi laju pertumbuhan dan komposisi hifa jamur, sehingga bahan bioaktifnya juga kemungkinan terpengaruh (Venâncio *et al.* 2017). Pada penelitian lain, salinitas rendah dapat meningkatkan produktivitas dari suatu fermentor dibandingkan tanpa adanya NaCl, tetapi pada salinitas tinggi menghambat proses produksi senyawa target (Wen *et al.* 2018). Namun demikian, salinitas optimum berbeda antara satu mikroorganisme dengan organisme yang lain tergantung sifat alamiah dari mikroba yang digunakan dalam proses fermentasi.

Analisis data GC MS menunjukkan bahwa salah satu senyawa mayor dalam

dedak yaitu asam elaidat (trans-9 C18:1) mengalami trans-cis isomerasi. Asam lemak trans merupakan asam lemak yang berbahaya bagi kesehatan manusia karena dapat menyebabkan penyakit jantung. Proses isomerasi cis/trans pada asam lemak biasanya terjadi dalam proses penggorengan (Cheng *et al.* 2018). Kemampuan jamur *T. harzianum* dalam proses isomerasi trans-cis pada asam lemak elaidat menjadi asam lemak oleat sangat bermanfaat dalam meningkatkan mutu bahan pangan atau bahan pakan ternak. Asam lemak oleat merupakan asam lemak yang baik bagi kesehatan karena dapat menurunkan tekanan darah dan plasma kolesterol (Lee *et al.* 2019). Asam oleat juga bermanfaat sebagai bahan pembuat "drug carier" untuk obat kanker (ElMasry *et al.* 2018). Fermentasi telah digunakan dalam berbagai bidang misalnya untuk memproduksi pigmen, industri makanan memproduksi asam lemak, dan pengolahan limbah (Liu *et al.*, 2019, Xuan *et al.*, 2018).

KESIMPULAN

Komposisi asam lemak mengalami perubahan pada dedak yang difermentasi baik dalam kondisi salin maupun non-salin. Proses fermentasi juga menghasilkan beberapa asam lemak baru yaitu: asam Nervonate, eneicosanoate, Cis-11,14-Eicosadienoic acid methyl ester, Cis-13-16-Docosadienoic acid methyl ester. Isomerasi asam elaidat menjadi asam oleat merupakan fenomena yang sangat menarik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari hibah RPI yang dibiayai dengan sumber

dana Selain APBN DPA SUKPA LPPM Universitas Diponegoro Tahun Anggaran 2017.

DAFTAR PUSTAKA

- Amira M.G.E., Ahmed A.L. & Tatsufumi O. 2009. Modulation of carcinogen metabolizing enzymes by chromanone A; a new chromone derivative from algicolous marine fungus *Penicillium* sp. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 28:317-322
- Cheng, N, Zhang J., Yin J., & Li S. 2018. Computational and Experimental Research on Mechanism of Cis/Trans Isomerization of Oleic Acid. *Heliyon* 4(9).
- ElMasry, S.R., Hathout R.M., Abdel-Halim M., & Mansour S.. 2018. In Vitro Transdermal Delivery of Sesamol Using Oleic Acid Chemically-Modified Gelatin Nanoparticles as a Potential Breast Cancer Medication. *J. Drug Delivery Sci. Technol.* 48: 30–39.
- Hadipernata, M., Supartono W., & Falah M.A.F. 2012. Proses Stabilisasi Dedak Padi (*Oryza sativa* L.) Menggunakan Radiasi Far Infra Red (FIR) Sebagai Bahan Baku Minyak Pangan. *J. Aplikasi Teknol. Pangan.* 1(4):103–107.
- Jeon, E.Y., Song, J. W., Cha, H. J., Lee, S.M., Lee, J., & Park, J.B. 2018. Intracellular transformation rates of fatty acids are influenced by expression of the fatty acid transporter FadL in *Escherichia coli* cell membrane. *J. Biotechnol.* 281:161–167.
- Knapp, I.S.S., Williams G.J, Carballo J.L. Cruz-Barraza J.A., Garner J.P.A, & Bell J.J, 2013. Restriction of sponges to an atoll lagoon as a result of reduced environmental quality. *Mar. Poll. Bull.* 66(1–2):209–220. doi: 10.1016/j.marpolbul.2012.08.017.
- Lee, D-H, Kulkarni K.P., Kim B.O, Seok Y.M., Song J.T., & Lee J.D. 2019. Comparative Assessment of Quality Characteristics of Chungkookjang Made from Soybean Seeds Differing in Oleic Acid Concentration. *J. Functional Foods.* 52:529–36
- Liu, J., Gao T., Luo Y., Chai X., Wu J., Zhao W., Jiao P., Luo F., & Lin Q.. 2019. Enhancement of Monascus Pigment Productivity via a Simultaneous Fermentation Process and Separation System Using Immobilized-Cell Fermentation. *Biore. Technol.* 272:552-560.
- Liu, J., Yuan M., Liu JN., & Huang X.F. 2017. Bioconversion of Mixed Volatile Fatty Acids into Microbial Lipids by *Cryptococcus Curvatus* ATCC 20509. *Bioresource Technology* 241:645–51.
- Marella, E.R., Holkenbirnk C., Siewers V., & Borodina I., 2018. Engineering microbial fatty acid metabolism for biofuels and biochemical. *Current Opinion in Biotechnol.* 50:39–46. DOI : 10.1016/j.copbio.2017.10.002.
- Mazidi, M., Katsiki, N., Mikhailidis, D. P., & Banach, M. 2018. Link between plasma trans-fatty acid and fatty liver is moderated by adiposity. *Int. J. Cardiology.* 272:316–322.
- Murniasih, T., Wibowo J.T., Putra M.Y., Untari F. & Maryani M.. 2016. Pengaruh nutrisi dan suhu terhadap selektivitas potensi antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan spons. *Jurnal Kelautan Tropis* Vol. 21(1):65–70
- Swathi, J. 2013. Marine fungal metabolites as a rich source of bioactive compounds. *African J. Biochem. Res.* 7(10):184–196.
- Venâncio, C., Pereira R., Freitas A.C., Rocha-Santos T.A.P., da Costa J.P., Duarte A.C. & Lopes I. 2017. Salinity induced effects on the growth rates and mycelia composition of basidiomycete and zygomycete fungi. *Environ. Poll.* 231:1633–1641. doi: 10.1016/j.envpol.2017.09.075.
- Wang, X., Wang, X. & Wang, T. 2017. An effective method for reducing free fatty acid content of high-acid rice bran oil by enzymatic amidation. *J. Indust. Eng. Chem.* 48:119–124. doi: 10.1016/j.jiec.2016.12.028.
- Wen, Q., Ji Y., Hao Y., Huang L., Chen Z., & Sposob M. 2018. Effect of Sodium Chloride on Polyhydroxyalkanoate Production from Food Waste Fermentation Leachate under Different Organic Loading Rate. *Biores. Technol.* 267:133–40.
- Wikanta, D.K. & Tembalang, P. 2012. Pengembangan Proses Thermokimia Untuk Peningkatan Konversi Asam Lemak Melalui Interfacial Activation Lipase Buah Segar Kelapa Sawit

Dengan Tuning Up. *Media Komunikasi Rekayasa Proses dan Teknologi Tepat Guna* 8(1):13–18.

Xuan, N.H., Ferng S., Ting, C.H, Lu, Y.C, Yeh, Y.F, Lai, Y.R, Chou, R.Y.H, Hwang, J.Y, & Hsu, C.K. 2018. Food Science and

Technology Effect of Initial 5 Days Fermentation under Low Salt Condition on the Quality of Soy Sauce. *LWT*. 92(300): 234–41.